

FENOTÍPUS MÓDOSÍTÓ GENETIKAI FAKTOROK  
AZONOSÍTÁSA MONOGÉNES BETEGSÉGEKBEN

Ph.D. értekezés tézisei

**Dr. Pap Éva Melinda**

Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola  
Szegedi Tudományegyetem

Témavezetők:  
Dr. Nikoletta Nagy  
Prof. Dr. Németh Gábor

Orvosi Genetikai Intézet  
Szülészeti és Nőgyógyászati Klinika  
Szegedi Tudományegyetem

Szeged

2020

## TARTALOMJEGYZÉK

TUDOMÁNYOS KÖZLEMÉNYEK.....	3
A tézisek alapjául szolgáló közlemények: .....	3
1. BEVEZETÉS .....	4
1.1. Monogénes betegségek .....	4
1.2. A <i>CYLD</i> gén mutációi által okozott betegség spectrum klinikai variánsai.....	5
1.3. A <i>CTSC</i> gén mutációi által okozott betegség spectrum klinikai variánsai .....	5
2. CÉLKITŰZÉSEK.....	6
3. BETEGEK ÉS MÓDSZEREK .....	7
3.1. Betegek .....	7
3.1.1. A vizsgálatba bevont BSS betegek .....	7
3.1.2. A vizsgálatba bevont PLS-ben és HMS-ben szenvedő betegek .....	7
3.2. Módszerek.....	7
3.2.1. DNS minták előkészítése .....	7
3.2.2. Teljes exom szekvenálás.....	8
3.2.3. Bioinformatikai analízis.....	8
3.2.4. Polimorfizmusok.....	9
4. EREDMÉNYEK.....	9
4.1. Három lehetséges fenotípus módosító variánst azonosítottunk BSS-ben.....	9
4.2. Két lehetséges fenotípus módosító variánst azonosítottunk HMS-ben .....	9
5. MEGBESZÉLÉS .....	10
6. KÖVETKEZTETÉSEK.....	12
7. ÖSSZEFOGLALÁS .....	13
9. REFERENCIÁK.....	14

## TUDOMÁNYOS KÖZLEMÉNYEK

### A tézisek alapjául szolgáló közlemények:

**1. Pap ÉM**, Farkas K, Tóth L, Fábos B, Széll M, Németh G, Nagy N.: Identification of putative genetic modifying factors that influence the development of Papillon-Lefèvre or Haim-Munk syndrome phenotypes. **Clin Exp Dermatol.** 2020 Jul;45(5):555-559. **IF: 1,977**

**2. Pap ÉM**, Farkas K, Széll M, Németh G, Rajan N, Nagy N.: Identification of putative phenotype-modifying genetic factors associated with phenotypic diversity in Brooke-Spiegler syndrome. **Exp Dermatol.** 2020.07.26. A cikk közlésre elfogadva. **IF: 3,368**

**3. Pap ÉM**, Széll M, Németh G, Nagy N: Fenotípus módosító genetikai faktorok azonosítása ritka monogénes betegségekben. **Orv Hetil.** Bírálattal.

## 1. BEVEZETÉS

### 1.1. Monogénes betegségek

Számos betegséget egy gén mutációja okozza, amely a test minden sejtjében előfordul, ezeket monogénes betegségeknek nevezzük. Bár a monogénes betegségek viszonylag ritkák, összességében betegek millióit érinti világszerte. Becslések szerint jelenleg több mint 10 000 emberi monogénes betegség ismert. Klinikai tüneteiket tekintve a monogénes betegségek nagyon változatosak lehetnek. Okozhatnak enyhe, súlyos vagy nagyon súlyos tüneteket is és a társuló fenotípus nagyfokú diverzitásával jellemezhetőek. A monogénes betegségek tünetei jelentős mértékben ronthatják az érintett betegek életminőségét, stigmatizálódást és szocializációs nehézségeket eredményezve (Kelsall *et al.*, 2013).

A Humán Genom Projekt (HGP) és az újgenerációs szekvenálási technológiák fejlődésének köszönhetően a monogénes betegségek megismerése felgyorsult. Az elmúlt 30 évben számos betegséget okozó gént és mutációt azonosítottak, és számos monogénes betegség genetikai hátterét tárták fel. Előfordulhat azonban, hogy a kóroki gének és mutációik azonosítása önmagában nem képes megválaszolni a betegség fenotípusának sokféleségével és/vagy a betegség prognózisával kapcsolatos klinikailag releváns kérdéseket (Jarinova *et al.*, 2012; Timmerman *et al.*, 2014; Kiritsi *et al.*, 2015; Smith *et al.*, 2019). Vizsgálataim révén ezeket a korlátokat sikerült leküzdeni, mivel az azonosított potenciális fenotípus módosító genetikai faktorok ezekre a kérdésekre és klinikai összefüggésekre is választ adhatnak.

Értekezésemben összefoglaltam a monogénes betegségekben végzett genetikai vizsgálataim eredményeit, vizsgálataim a következő betegségekre fókuszáltak: a cilindromatózis gén (*CYLD*) mutációi által okozott betegség spektrum, mint a multiplex familiáris trichoepitheliomatózis (MFT1), a familiáris cilindromatózis (FC) és a Brooke-Spiegler szindróma (BSS), illetve a katepszin C gén (*CTSC*) mutációi által okozott betegség spektruma, mint a Papillon-Lefèvre szindróma (PLS) és a Haim-Munk szindróma (HMS). Kutatásaim fenotípus módosító genetikai tényezők azonosítására összpontosultak, amelyek felelősek lehetnek az ezekben a ritka monogénes betegségekben érintett – ugyanazon kóroki mutációt hordozó - páciensek esetében tapasztalt fenotípusos különbségeiért.

### 1.2. A *CYLD* gén mutációi által okozott betegség spectrum klinikai variánsai

A BSS egy ritka monogén bőrbetegség, amelyet a bőrfüggelék daganatok, például cilindrómák, trichoepitheliómák és spiradenómák kialakulása jellemez (Evans 1954; Bignell *et al.*, 2000). A BSS kialakulásának hátterében a *CYLD* - amely a 16q12-q13-on található - kóroki mutációi ismertek (Bignell *et al.*, 2000). Mindaddig összesen 95 különféle betegséget okozó mutációt azonosítottak a *CYLD* génen (Nagy *et al.*, 2015). A megfigyelt fenotípusok és a társuló *CYLD* mutációk tekintetében nehéz genotípus-fenotípus összefüggéseket meghatározni BSS-ben. A genotípus-fenotípus összefüggések feltárása azonban jelentős klinikai jelentőséggel bír a betegség mechanizmusának megértésében és hozzájárul a jövőbeni új terápiás modalitások kidolgozásához. A kép még bonyolultabb, mivel a *CYLD* gén ugyanazon mutációit azonosították olyan betegekben, akiknél a BSS, FC vagy MTF1 fenotípust mutattak. Mindezen megfigyelések arra utalnak, hogy ezek a betegségek, nem különböző betegségek, hanem a *CYLD* gén mutációi által okozott spektrum klinikai variánsai (Rajan *et al.*, 2011; Nagy *et al.*, 2015).

### 1.3. A *CTSC* gén mutációi által okozott betegség spectrum klinikai variánsai

A PLS-t és a HMS-t átfedő dermatológiai és fogászati tünetek jellemzik, ideértve a tenyér és a talp hiperkeratózist, valamint a súlyos parodontitist (Selvaraju *et al.*, 2003; Nagy *et al.*, 2014). A HMS-ben szenvedő betegek enyhe mentális retardációt, a dura mater kalcifikációját, és a fertőzésekre fokozott érzékenységet mutathatnak (Gorlin *et al.*, 1964; Haneke *et al.*, 1979; Dalgic *et al.*, 2011). A HMS sajátosságai a pes planus, arachnodactília, akroosteolízis és onychogryphosis (Papillon *et al.*, 1924; Haim *et al.*, 1965; Hart *et al.*, 1999).

A PLS gyakorisága megközelítőleg négy eset / millió fő, és eddig világszerte mintegy 300 esetet közöltek. A családon belüli házasság az esetek több mint 50%-ában jelen van (Hewitt *et al.*, 2004). A HMS prevalenciája megközelítőleg egy eset / millió fő, és az ismert esetek többsége néhány család leszármazottai, akik egy vallásos közösségből származnak, Cochiban, Indiában. Egy független brazil beteget is jelentettek. A szakirodalomban eddig kevesebb mint 100 HMS-es esetet közöltek (Papillon *et al.*, 1924; Haim *et al.*, 1965; Hart *et al.*, 1999).

Az érintett férfiak és nők aránya mindkét szindróma esetén 1:1. A PLS és a HMS egyaránt autoszomális recesszív módon öröklődnek, és a *CTSC* gén mutációinak következményeként alakulnak ki (Toomes *et al.*, 1999; Adkison *et al.*, 2002).

Jelenleg 89 *CTSC* génmutációt azonosítottak (Sulák *et al.*, 2016). Ezeknek a mutációknak a többségét PLS-ben szenvedő betegekben fedezték fel, míg csak 4%-uk volt társult HMS-sel (Selvaraju *et al.*, 2003; Nagy *et al.*, 2014).

A jelentett PLS és HMS fenotípusok és a kapcsolódó *CTSC* mutációk fényében feltételeztük, hogy a PLS és HMS ugyanaz az entitás, eltérő fenotípusos megjelenéssel (Sulák *et al.*, 2016). Noha nehéz meghatározni a genotípus-fenotípus összefüggéseket, ezeknek a korrelációknak a kimutatása valószínűleg jelentős klinikai jelentőséggel bír a különféle klinikai variációk (PLS és HMS) kialakulása, a betegség mechanizmusa és a jövőbeni terápiás módszerek kialakítása szempontjából.

## 2. CÉLKITŰZÉSEK

Célul tűztük ki olyan magyar és az angolszász BSS családok vizsgálatát, amelyek tünetes tagjai ugyanazon *recurrens csírvonal* mutációt hordozza a *CYLD* génben (c.2806C> T, p.Arg936X), ám a páciensek fenotípusban jelentős különbségek láthatóak (Nagy *et al.*, 2013). Ennek a két családnak a vizsgálata kiváló lehetőséget kínál a fenotípus-módosító genetikai tényezők azonosítására, amelyek felelősek lehetnek a BSS fenotípusos sokféleségéért. A feltételezett fenotípust módosító genetikai tényezők azonosítása érdekében a két család tünetes tagjaiban teljes exome szekvenálást (WES) végeztünk és a kapott eredményeket összehasonlítottuk.

További célul tűztük ki két kaposvári beteg vizsgálatát, akik közül az egyik PLS-ben, a másik HMS-ben szenved, de ennek ellenére ugyanazt a homozigóta nonszensz mutációt (c.748C/T; p.Arg250X) hordozzák a *CTSC* génben (Sulák *et al.*, 2016). Mivel jelenleg nincs magyarázat arra, hogy ugyanazon mutáció miért eredményezheti ezt a két különböző klinikai változatot (PLS és HMS), célul tűztük ki fenotípust módosító genetikai faktorok azonosítását, melyek felelőssek lehetnek ezen két beteg fenotípusos különbségeiért. A feltételezett fenotípust módosító genetikai tényezők azonosítása érdekében - amelyek magyarázatot adhatnak a

megfigyelt klinikai különbségekre a PLS és az azonos okozó *CTSC* mutációt hordozó HMS betegek között - WES-t végeztünk.

### **3. BETEGEK ÉS MÓDSZEREK**

#### **3.1. Betegek**

##### **3.1.1. A vizsgálatba bevont BSS betegek**

Vizsgálatainkba egy BSS-ben szenvedő Bukovinából (Románia) származó magyar családot és egy Észak-Angliából származó angol BSS családot vontunk be. Az érintett családtagok klinikai tüneteit és a családfákat kutatócsoportunk már egy korábbi közleményében részletesen bemutattuk (Nagy *et al.*, 2013). A magyar BSS származású betegek súlyos tüneteket mutatnak: számos, nagyméretű függelék-daganat, amelyek főként a fejbőrön, az arcon és a törzsön jelennek meg (Nagy *et al.*, 2013). Az angolszász származású betegek mérsékelt súlyosságot mutattak: kevés számú függelék-daganat, kis méretűek, elsősorban az arcon alakulnak ki (Nagy *et al.*, 2013).

##### **3.1.2. A vizsgálatba bevont PLS-ben és HMS-ben szenvedő betegek**

Az érintett betegek klinikai fenotípusait a kutatócsoportunk korábbi tanulmányában (Sulák és mtsai., 2016) mutattuk be részletesen. Egy kaposvári nő tipikus HMS-fenotípussal: tenyereken és talpakon szimmetrikusan enyhe hiperkeratotikus plakkok, onychogryphosis és arachnodactília és pes planus. Egy szintén kaposvári férfi beteg tipikus PLS fenotípussal: mérsékelt hiperkeratózis a tenyerén és a talpán. Mindkét betegnek hiányzott az összes állandó foga és állandó fogpótlást használtak. Előző cikkünkben olyan haplotípus vizsgálati eredményről is beszámoltunk, amely felveti annak esélyét, hogy ezek a betegek testvérek lehetnek (Sulák *et al.*, 2016). Az érintetlen rokonok vizsgálata nem volt lehetséges (Sulák *et al.*, 2016).

#### **3.2. Módszerek**

##### **3.2.1. DNS minták előkészítése**

Két magyar és két anglo-szász beteget vizsgáltak, akiket a BSS különféle fenotípusai érintettek, de ugyanazt a betegséget okozó mutációt hordozták

(c.2806C> T, p.Arg936X) a *CYLD* génben. (Nagy *et al.*, 2013). A betegek (n = 4) DNS-mintáit használtuk WES-re, melyet az UD-GenoMed Kft. kivitelezett (Debrecen; <http://www.ud-genomed.hu/>).

PLS-ben és HMS-ben szenvedő betegeket vizsgáltunk, amelyek ugyanazt a betegséget okozó mutációt (c.748C / T; p.Arg250X) hordozták a *CTSC* génben (Sulák *et al.*, 2016). Mindkét beteg DNS-mintáit WES-szel vizsgáltuk, amelyet az UD-GenoMed kft. végzett. A DNS-minták minőségét agaróz-gél elektroforézissel értékelték.

### 3.2.2. Teljes exom szekvenálás

Röviden: 4 ug DNS-t 100 ng/ul koncentrációval használtuk a könyvtár készítéshez. Folyékony chip befogó rendszert (Agilent Research Laboratories, Santa Clara, CA, USA) használtunk az összes humán exon régió hatékony dúsításához. A szekvenálást később az Illumina (San Diego, CA, USA) platformon hajtottuk végre. Az exonkészletet (SureSelect Human All Exon V6 Kit; Agilent) használtuk a könyvtár felépítéséhez és a befogási kísérletekhez, majd egy bioanalizátort (2100. modell; Agilent) használtunk a könyvtár ellenőrzésére. Az Illumina platformot használtuk a szekvenáláshoz a könyvtár tényleges koncentrációja és az adatkimeneti követelmények szerint. Nagy áteresztőképességű páros végű szekvenálást végeztünk (páros végű 150 bp; PE150).

### 3.2.3. Bioinformatikai analízis

A WES befejezése után bioinformatikai elemzést végeztünk, amely magában foglalta a szekvenálási adatok minőségének értékelését, a polimorfizmusok (SNP) kimutatását és a teljes exom asszociációs elemzést.

A szekvenálási adatminőség-ellenőrzési követelmények a következők voltak: szekvenálási hibaarány minden alaphelyzetnél <1%, átlagos Q20 arány> 90%, átlagos Q30 arány> 80%, átlagos hibaarány <0,1%, a szekvenálási igazítási arány  $\leq 95\%$  és olvassa le az alap mélységét egy helyen  $\geq 10X$ .



### 3.2.4. Polimorfizmusok

A szekvencia variánsok kimutatására kiváló minőségű szekvenciákat igazítottuk a humán referencia genomhoz (GRCh37 / hg19), és a kimutatott variánsokat elemeztük. A variánsokat az olvasási mélység, az allél gyakorisága és az előfordulási gyakoriság alapján szűrtük olyan genomiális variánsok adatbázisokban, mint például az ExAc (v.0.3), a ClinVar és a Kaviar.

A PolyPhen2, SIFT, LRT, Mutation Taster és a Mutation Assessor programokat használtuk a funkcionális hatás előrejelzésére. Az összes azonosított jelölt variánst közvetlen szekvenálással igazoltuk (Delta Bio 2000 Ltd., Szeged, Magyarország; <http://www.deltabio.hu/>).

## 4. EREDMÉNYEK

### 4.1. Három lehetséges fenotípus módosító variánst azonosítottunk BSS-ben

A *CYLD* génben ugyanazt a betegséget okozó mutációt (c.2806C> T, p.Arg936X) hordozó magyar és anglo-szász BSS-ben szenvedő betegek WES adatainak összehasonlítása 20 variánst azonosított, amelyek mind a magyar betegekben jelen voltak, de nem az angolszász betegekben. A 20 variáns közül három potenciális fenotípust módosító genetikai variáns: az rs1053023 SNP a szignál-transzduktor és transzkripciós aktivátor 3. (*STAT3*) génen, az rs1131877 SNP a tumornekrózis faktor recepttorral társított faktor 3 (*TRAF3*) génen és a BRCA1 1. gén szomszédja (*NBR1*) gén rs202122812 SNP-je. Az rs1053023 polimorfizmus a *STAT3* gén 3'UTR régiójában található, míg a másik két polimorfizmus (rs1131877 és rs202122812) a *TRAF3* és *NBR1* gének misszensz variánsai.

### 4.2. Két lehetséges fenotípus módosító variánst azonosítottunk HMS-ben

A *CTSC* génen ugyanazt a betegséget okozó mutációt (c.748C/T; p.Arg250X) hordozó PLS-ben és HMS-ben szenvedő betegek WES adatainak összehasonlítása során 36 variáns azonosítottunk, melyek jelen vannak a HMS betegben, de a PLS-ben szenvedő beteg nem hordozza őket. A 34 variáns közül kettő potenciálisan fenotípust módosító genetikai variáns: az SH2 domént tartalmazó 4A (*SH2D4A*) gén rs34608771 SNP-je és a szag kötő fehérje 2A (*OBP2A*) gén rs55695858 polimorfizmusa. Mindkettő misszensz polimorfizmus.

## 5. MEGBESZÉLÉS

Bár a betegséget okozó mutációk azonosítása továbbra is rendkívül fontos az oki terápia és a családtervezés szempontjából, a kóroki mutáció azonosítása nem képes megválaszolni a fenotípus sokféleségével és a betegség prognózisával kapcsolatos klinikailag releváns kérdéseket (Jarinova *et al.*, 2012; Timmerman *et al.*, 2014; Kiritsi *et al.*, 2015; Smith és munkatársai, 2019). Ezen kérdések megválaszolása céljából potenciális fenotípust módosító genetikai faktorokat azonosítottunk ugyanazon kóroki mutációt hordozó, de különböző klinikai tüneteket mutató magyar és az angolszász BSS családokban WES vizsgálattal (Nagy *et al.*, 2013). Összehasonlítva a magyar és az angolszász BSS betegek WES adatait, három feltételezett fenotípust módosító genetikai variánst azonosítottunk, amelyek potenciálisan magyarázzák az azonos betegséget okozó *CYLD* mutációt hordozó betegek feltűnő fenotípusos különbségeit.

A STAT3 egy transzkripciós faktor, amelyet konstitutíven aktiválnak számos emberi rákban, és kritikus szerepet játszik a rákos sejtek túlélésében, áttétek kialakulásában és az angiogenezisben (Yu *et al.*, 2009). A STAT3-at az interleukin-6 (IL-6) aktiválja, és közvetlenül aktiválja a mikroRNS-eket (miRs), például a miR-21 és a miR-181b-1 (Aggarwal *et al.*, 2009). A MiR-21 és a miR-181b-1 gátolja a CYLD enzimaktivitását, ami megnövekedett nukleáris faktor- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) aktivitást eredményez. Tehát a STAT3 nemcsak az IL-6 downstream célpontja, hanem a miR-21, miR-181b-1 és CYLD mellett is a pozitív visszacsatolási kör része, amely az epigenetikus kapcsolón alapul, amely a gyulladást a rákhoz köti (Iliopoulos *et al.*, 2010). A B-sejt CLL/ lymphoma 3 (BCL3) fehérjét, amely közvetlenül kölcsönhatásba lép a STAT3 fehérjével, a CYLD enzim deubikvitinálja, és a rendellenes BCL3 ubiquitinizációt társították a bazálsejtes karcinómák kialakulásához (Chaudhary *et al.*, 2015). Nemrég arról számoltak be, hogy a BCL3 onkogénként szolgál a méhnyakrákban, és onkogén hatását a STAT3 közvetíti (Zhao *et al.*, 2016). Érdekes, hogy a STAT3 gén rs1053023 SNP-jét már összefüggésbe hozták sclerosis multiplexszel (Lu *et al.*, 2005), és B-sejtes non-Hodgkin limfómával (Butterbach *et al.*, 2011). Ez azonban az első tanulmány, amely felteveli a STAT3 potenciális fenotípus módosító szerepét BSS-ben.

A TRAF3 a TRAF fehérjék családjának tagja, amelyek mint intracelluláris adapterek, mint E3 ubiquitin-ligázok közvetítik a jelátvitelt a különféle receptorok aktiválódása után. A TRAF fehérjéken keresztül szignáló receptorok közé tartoznak a gyulladásban, a veleszületett immunválaszokban és a sejthalálban résztvevők, mint például: tumor nekrosis faktor receptorok, Toll-szerű receptorok, RIG-1-szerű receptorok és interleukin-1 receptorok. (Wang *et al.*, 2010; Hacker *et al.*, 2011). A TRAF-val kölcsönhatásban lévő protein (TRAIP) kölcsönhatásba lép a TRAF3-mal, a TRAIP a CYLD-el is kölcsönhatásba lép (Chapard *et al.*, 2012). A TRAIP expresszió megnövekedett bazálsejtes karcinómákban és több emlő epiteliális sejtvonalban, amelyek onkogén potenciálja a nem rosszindulatútól az erősen invazívig terjed (Almeida *et al.*, 2011). A TRAF3-ban és a CYLD-ben az NF- $\kappa$ B konstitutív aktiválódásához vezető mutációkat azonosítottak daganatokban, ideértve a multiplex mielómát (Harhaj *et al.*, 2012). A TRAF3 gén rs1131877 SNP-je nagymértékben prediktív a nyelőcső sugárkezelés utáni érzékenységre (De Ruyck *et al.*, 2011), és vizsgálatunkban felvetettük kapcsolatát a BSS fenotípusos változatosságával.

Az NBR1 egy autofágikus adapter protein, amely részt vesz a sérült mitokondriumok hatékony megtisztításában (Shi *et al.*, 2015). Röviden: mitokondriális károsodás esetén az E3-ubiquitin-ligázokat a citoszolból topolarizált mitokondriumokba toborozzák, ahol a sérült mitokondriális fehérjéket célozzák meg az ubikvitinizáció és az autofágia általi degradáció céljából (Shi *et al.*, 2014). Az NBR1 az 1. szekvenszozóma (SQSTM1) funkcionális homológja, egy másik autofágikus adapter protein, amely szelektív autofágia szubsztrát, amely más szubsztrátok lebomlásának receptoraként is szolgál (Svenning *et al.*, 2011). A CYLD és a TRAF kölcsönhatása az SQSTM1-től függ, és az SQSTM1 hiánya a CYLD enzim aktivitásának csökkenését eredményezi (Wooten *et al.*, 2008; Into *et al.*, 2010). Az NBR1 gén rs202122812 SNP-jét korábban egyetlen emberi betegséggel sem társították: ez az első vizsgálat, amely klinikai jelentőségét feltételezi a BSS-hez kapcsolódó fenotípusos sokféleség kialakulásában.

A HMS és a PLS betegek WES adatainak összehasonlítása két potenciális fenotípust módosító genetikai variánst azonosított, az egyik az SH2D4A gén rs34608771 SNP-je, amely egy T-sejt-expresszált adapter fehérjét kódol, amelyet T-sejtek, B-sejtek, makrofágok és dendritikus sejtek expresszálnak (Hashimoto *et al.*, 2000). Az SH2D4A szabályozza a T-sejt receptor (TCR) szignál transzdukcióját

a T-sejtekben, és humán T-sejtekben az expressziója megnövekedett a T-sejt aktiválás válaszában (Gonçalves *et al.*, 2018). Az SH2D4A a cisztatin F révén kapcsolódik a katepszin C-hez. Ez utóbbi fehérje egy cisztein-proteáz inhibitor, amelyet szelektíven expresszálnak immunsejtek, például T-sejtek, NK-sejtek és dendritikus sejtek (Obata-Onai *et al.*, 2002). Az SH2D4A gén rs34608771 polimorfizmusát korábban nem társították semmilyen emberi betegséggel: ez az első vizsgálat, amely összekapcsolja azt a HMS klinikai változatának kialakulásával, és felteszi feltételezhető kapcsolatát a PLS és HMS betegek fenotípusos különbségeivel.

A másik feltételezett fenotípust módosító genetikai variáns az rs55695858 SNP az OBP2A génen, amely egy szagú kötő hordozófehérjét kódol, amelynek ismert környezeti bioszenzor funkciója van (Lacazette *et al.*, 2000). Az OBP2A fehérje az orrszerkezetben, a nyálban és a nyálmirigyekben és a tüdőben expresszálódik (Lapinski *et al.*, 2009 és 2019). Az OBP2A kölcsönhatásba lép a GLT6D1 gén által kódolt 1 (GLT6D1) fehérjét tartalmazó glikoziltranszferáz-doménnel, amelyet genomszintű asszociációs tanulmányok alapján parodontitiszre érzékeny lokuszként azonosítottak, és ezt az összefüggést több korábbi vizsgálat is megerősítette (Li *et al.*, 2009; Hasim *et al.*, 2015). Noha az OBP2A gén genetikai változatai befolyásolják a kódolt fehérje szubsztrátkötési specifitását, korábban nem volt összefüggésbe hozva egyetlen ismert emberi betegség kialakulásával sem (Halfon *et al.*, 1998; Hamilton *et al.*, 2008). Mivel a parodontitisz a PLS és HMS fenotípusok egyik fő jellemzője, feltételezzük, hogy az OBP2A gén rs55695858 SNP-je hozzájárulhat a PLS és HMS betegek között megfigyelt fenotípusos különbségekhez.

## 6. KÖVETKEZTETÉSEK

Kutatásunk célja az volt, hogy azonosítsuk az azonos betegséget okozó *CYLD* mutációt hordozó BSS betegek fenotípusos különbségeiért felelős fenotípust módosító genetikai polimorfizmusokat. Továbbá célul tűztük ki olyan fenotípust módosító genetikai faktorok azonosítását, melyek összefüggésbe hozhatóak az azonos betegséget okozó *CTSC* mutációt hordozó PLS-ben és HMS-ben szenvedő betegek fenotípusbeli különbségeiért. Meg kell jegyezni, hogy a genetikai tényezők mellett a környezeti vagy életmódbeli tényezők is hozzájárulhatnak a vizsgált

betegek fenotípusos különbségeihez. További funkcionális vizsgálatokra van szükség az azonosított fenotípus-módosító genetikai tényezők klinikai relevanciájának bizonyításához és a fenotípus-módosító szerepek magyarázatának alapjául szolgáló mechanizmus leírásához. Vizsgálataink hangsúlyozzák a fenotípust módosító genetikai faktorok azonosításának jelentőségét a fenotípusbeli diverzitás hátterének feltárásban (Lee *et al.*, 2008).

## 7. ÖSSZEFOGLALÁS

Kutatásaink a feltételezett fenotípus módosító genetikai tényezők azonosítására összpontosultak a vizsgált ritka monogénes betegségekben, amelyek felelősek az ugyanazt a betegséget okozó *CYLD* vagy *CTSC* mutációt hordozó betegek fenotípusos különbségeiért.

Nemrégiben vizsgáltunk egy BSS által érintett magyar és egy angolszász családot. Annak ellenére, hogy a *CYLD* gén ugyanazon betegséget okozó mutációját (c.2806C> T, p.Arg936X) hordozták, a két család érintett családtagjai fenotípusaikban szembetűnő különbségeket mutatnak. A fenotípust módosító genetikai tényezők azonosításához WES-el végeztük.

Három feltételezett fenotípust módosító genetikai variánst azonosítottunk: a STAT3 gén rs1053023 SNP-jét, a TRAF3 rs1131877 SNP-jét és az NBR1 gén rs202122812 SNP-jét.

Továbbá vizsgáltunk egy PLS-ben és egy HMS-ben szenvedő páciens, akik ugyanazt a homozigóta nonszensz *CTSC* mutációt hordozzák (c.748C/T; p.Arg250X). Potenciális fenotípust módosító genetikai variánsok azonosítása érdekében mindkét betegnél WES történt, majd összehasonlítottuk az eredményeket és két potenciálisan releváns fenotípust módosító genetikai variánst azonosítottunk. A SH2D4A gén rs34608771 SNP-jét és az OBP2A gén rs55695858 SNP-jét.

Vizsgálati eredményeink hangsúlyozzák a fenotípust módosító genetikai variánsok klinikai jelentőségét, melyek elősegíthetik a genotípus– fenotípus összefüggések feltárását.

## 9. REFERENCIÁK

- Adkison AM, Raptis SZ, Kelley DG *et al.* Dipeptidyl peptidase I activates neutrophil-derived serine proteases and regulates the development of acute experimental arthritis. *J Clin Invest* 2002;109:363-71.
- Aggarwal BB, Kunnumakkara AB, Harikumar KB *et al.* Signal transducer and activator of transcription-3, inflammation, and cancer: how intimate is the relationship. *Ann N Y Acad Sci.* 2009;1171:59-76.
- Almeida S, Ryser S, Obarzanek-Fojt M *et al.* The TRAF-interacting protein (TRIP) is a regulator of keratinocyte proliferation. *J Invest Dermatol.* 2011;131:349-57.
- Bignell GR, Warren W, Seal S *et al.* Identification of the familial cylindromatosis tumour suppressor gene. *Nat Genet.* 2000;25:160-5.
- Butterbach K, Beckmann L, de Sanjosé S *et al.* Association of JAK-STAT pathway related genes with lymphoma risk: results of a European case-control study (EpiLymph). *Br J Haematol.* 2011;153:318-33.
- Chapard C, Hohl D, Huber M. The role of the TRAF-interacting protein in proliferation and differentiation. *Exp Dermatol.* 2012;21:321-6.
- Chaudhary SC, Tang X, Arumugam A *et al.* Shh and p50/Bcl3 signaling crosstalk drives pathogenesis of BCCs in Gorlin syndrome. *Oncotarget.* 2015;6:36789-814.
- Dalgic B, Bukulmez A, Sari S. Eponym: Papillon-Lefevre syndrome. *Eur J Pediatr.* 2011;170:689-91.
- De Ruyck K, Sabbe N, Oberije C *et al.* Development of a multicomponent prediction model for acute esophagitis in lung cancer patients receiving chemoradiotherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2011;81:537-44.
- Evans CD. Turban tumour. *Br J Dermatol.* 1954;66:434-43.
- Gonçalves PF, Harris TH, Elmariah T *et al.* Genetic polymorphisms and periodontal disease in populations of African descent: A review. *J Periodontal Res.* 2018;53:164-73.
- Gorlin RJ, Sedano H, Anderson VE. The syndrome of palmar-plantar hyperkeratosis and premature periodontal destruction of the teeth: a clinical and genetic analysis of the Papillon-Lefevre syndrome. *J Pediatr* 1964;65:895-908.
- Hacker H, Tseng PH, Karin M. Expanding TRAF function: TRAF3 as a tri-faced immune regulator. *Nat Rev Immunol.* 2011;11:457-68.
- Haim S, Munk J. Keratosis palmo-plantaris congenita, with periodontitis, arachnodactyly and a peculiar deformity of the terminal phalanges. *Br J Dermatol.* 1965;77:42-54.
- Halfon S, Ford J, Foster J *et al.* Leukocystatin, a new class II cystatin expressed selectively by hematopoietic cells. *J Biol Chem.* 1998;273:16400-8.
- Hamilton G, Colbert JD, Schuettelkopf AW *et al.* Cystatin F is a cathepsin C-directed protease inhibitor regulated by proteolysis. *EMBO J.* 2008;27:499-508.
- Haneke E. The Papillon-Lefevre syndrome: keratosis palmoplantaris with periodontopathy: report of a case and review of the cases in the literature. *Hum Genet.* 1979;51:1-35.
- Harhaj EW, Dixit VM. Regulation of NF-kappaB by deubiquitinases. *Immunol Rev.* 2012;246:107-24.
- Hart TC, Hart PS, Bowden DW *et al.* Mutations of the cathepsin C gene are responsible for Papillon-Lefevre syndrome. *J Med Genet.* 1999;36:881-7.
- Hashim NT, Linden GJ, Ibrahim ME *et al.* Replication of the association of GLT6D1 with aggressive periodontitis in a Sudanese population. *J Clin Periodontol.* 2015;42:319-24.
- Hashimoto SI, Suzuki T, Nagai S *et al.* Identification of genes specifically expressed in human activated and mature dendritic cells through serial analysis of gene expression. *Blood.* 2000;96:2206-14.
- Hewitt C, McCormick D, Linden G *et al.* The role of cathepsin C in Papillon-Lefevre syndrome, prepubertal periodontitis, and aggressive periodontitis. *Hum Mutat.* 2004;23:222-8.
- Iliopoulos D, Jaeger SA, Hirsch HA *et al.* STAT3 activation of miR-21 and miR-181b-1 via PTEN and CYLD are part of the epigenetic switch linking inflammation to cancer. *Mol Cell.* 2010;39:493-506.
- Into T, Inomata M, Niida S *et al.* Regulation of MyD88 aggregation and the MyD88-dependent signaling pathway by sequestosome 1 and histone deacetylase 6. *J Biol Chem.* 2010;285:35759-69.
- Jarinova O, Ekker M. Regulatory variations in the era of next-generation sequencing: implications for clinical molecular diagnostics. *Hum Mutat.* 2012;33:1021-30.

- Kelsall D. With a disease for every day, who will care for the orphans? *CMAJ* 2013;185:1475.
- Kiritsi D, Valari M, Fortugno P et al. Whole-exome sequencing in patients with ichthyosis reveals modifiers associated with increased IgE levels and allergic sensitizations. *J Allergy Clin Immunol*. 2015;135:280-3.
- Lacazette E, Gachon AM, Pitiot G. A novel human odorant-binding protein gene family resulting from genomic duplicons at 9q34: differential expression in the oral and genital spheres. *Hum Mol Genet*. 2000;9:289-301.
- Lapinski PE, Oliver JA, Bodie JN et al. The T-cell-specific adapter protein family: TSAd, ALX, and SH2D4A/SH2D4B. *Immunol Rev*. 2009;232:240-54.
- Lapinski PE, Oliver JA, Kamen LA et al. Genetic analysis of SH2D4A, a novel adapter protein related to T cell-specific adapter and adapter protein in lymphocytes of unknown function, reveals a redundant function in T cells. *J Immunol*. 2008;181:2019-27.
- Lee DS, Park J, Kay KA et al. The implications of human metabolic network topology for disease comorbidity. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008;105:9880-5.
- Li T, Li W, Lu J et al. SH2D4A regulates cell proliferation via the ERalpha/PLC-gamma/PKC pathway. *BMB Rep*. 2009;42:516-22.
- Lu J, Getz G, Miska EA et al. MicroRNA expression profiles classify human cancers. *Nature*. 2005;435:834-8.
- Nagy N, Farkas K, Kemény L et al. Phenotype-genotype correlations for clinical variants caused by CYLD mutations. *Eur J Med Genet*. 2015;58:271-8.
- Nagy N, Rajan N, Farkas K et al. A Mutational Hotspot in CYLD Causing Cyndromas: A Comparison of Phenotypes Arising in Different Genetic Backgrounds. *Acta Derm Venereol*. 2013;93:743-5.
- Nagy N, Vályi P, Csoma Zs et al. CTSC and Papillon-Lefèvre syndrome: detection of recurrent mutations in Hungarian patients, a review of published variants and database update. *Mol Gen & Genom Med*. 2014;2:217-28.
- Obata-Onai A, Hashimoto S, Onai N et al. Comprehensive gene expression analysis of human NK cells and CD8(+) T lymphocytes. *Int Immunol*. 2002;14:1085-98.
- Papillon PH, Lefèvre P. Deuxcas de kératodermiepalmaire et plantairesymétriquefamiliale (maladie de Meleda) chez le frère et la soeur. Coexistence dans les deuxcasd'altérations dentaires graves. *Bulletin de la Société française de dermatologie et de vénéorologie*, Paris 1924;31:82-7.
- Rajan N, Burn J, Langtry J et al. Transition from cylindroma to spiradenoma in CYLD-defective tumours is associated with reduced DKK2 expression. *J Pathol*. 2011;224:309-321.
- Selvaraju V, Markandaya M, Prasad PV et al. Mutation analysis of the cathepsin C gene in Indian families with Papillon-Lefèvre syndrome. *BMC Med Genet*. 2003;4:5.
- Shi J, Fung G, Deng H et al. NBR1 is dispensable for PARK2-mediated mitophagy regardless of the presence or absence of SQSTM1. *Cell Death Dis*. 2015;6:1943.
- Shi J, Fung G, Piesik P et al. Dominant-negative function of the C-terminal fragments of NBR1 and SQSTM1 generated during enteroviral infection. *Cell Death Differ*. 2014;21:1432-41.
- Smith DJ, Klein K, Hartel G et al. Mutations in the HFE gene can be associated with increased lung disease severity in cystic fibrosis. *Gene*. 2019;683:12-17.
- Sulák A, Tóth L, Farkas K et al. One mutation, two phenotypes: a single nonsense mutation of the CTSC gene causes two clinically distinct phenotypes. *Clin Exp Dermatol*. 2016;41:190-5.
- Svenning S, Lamark T, Krause K et al. Plant NBR1 is a selective autophagy substrate and a functional hybrid of the mammalian autophagic adapters NBR1 and p62/SQSTM1. *Autophagy*. 2011;7:993-1010.
- Timmerman V, Strickland AV, Züchner S. Genetics of Charcot-Marie-Tooth (CMT) Disease within the Frame of the Human Genome Project Success. *Genes (Basel)*. 2014;5:13-32.
- Toomes C, James J, Wood AJ et al. Loss-of-function mutations in the cathepsin C gene result in periodontal disease and palmoplantar keratosis. *Nat Genet*. 1999;23:421-4.
- Wang Y, Zhang P, Liu Y et al. TRAF-mediated regulation of immune and inflammatory responses. *Sci China Life Sci*. 2010;53:159-68.
- Wooten MW, Geetha T, Babu JR et al. Essential role of sequestosome 1/p62 in regulating accumulation of Lys63-ubiquitinated proteins. *J Biol Chem*. 2008;283:6783-9.
- Yu H, Pardoll D, Jove R. STATs in cancer inflammation and immunity: a leading role for STAT3. *Nat Rev Cancer*. 2009;9:798-809.
- Zhao H, Wang W, Zhao Q et al. BCL3 exerts an oncogenic function by regulating STAT3 in human cervical cancer. *Onco Targets Ther*. 2016;9:6619-6629.